

УДК 664 : [663.26 : [641.1 : 613.31]

DOI: 10.15587/1729-4061.2017.108992

# ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ЭКСТРАГИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ВИНОГРАДНЫХ ВЫЖИМОК СУБКРИТИЧЕСКОЙ ВОДОЙ

**В. А. Сукманов**

Доктор технических наук, профессор  
Кафедра технологического оборудования  
пищевых производств и торговли  
Полтавский университет экономики и торговли  
ул. Ковалю, 3, г. Полтава, Украина, 36014  
E-mail: Sukmanovvaleri@gmail.com

**В. Л. Завьялов**

Доктор технических наук, профессор  
Кафедра процессов и аппаратов  
пищевых производств\*  
E-mail: zavialov@nuft.edu.ua

**А. И. Маринин**

Кандидат технических наук  
Проблемная научно-исследовательская лаборатория\*  
E-mail: andrii\_marynin@ukr.net

\*Национальный университет пищевых технологий  
ул. Владимирская, 68, г. Киев, Украина, 01601

*Досліджено процес вилучення біологічно активних речовин з виноградних вичавок субкритичною водою. Ідентифіковано наявність галлової кислоти і фурфуролу. Встановлено вплив технологічних параметрів процесу екстрагування (розмір фракції сухих виноградних вичавок, температура, тиск, гідромодуль) на антиоксидантну активність екстрактів, вихід сухих речовин, загальний вихід поліфенолів, винно-кислих сполук, редуруючих речовин. Визначено раціональні параметри даного процесу*

*Ключові слова: виноградні вичавки, біологічно активні речовини, екстрагування, субкритична вода, антиоксидантна активність*

*Исследован процесс извлечения биологически активных веществ из виноградных выжимок субкритической водой. Идентифицировано наличие галловой кислоты и фурфурола. Установлено влияние технологических параметров процесса экстрагирования (размер фракции сухих виноградных выжимок, температура, давление, гидромодуль) на антиоксидантную активность экстрактов, выход сухих веществ, общий выход полифенолов, винно-кислых соединений, редуцирующих веществ. Определены рациональные параметры данного процесса.*

*Ключевые слова: виноградные выжимки, биологически активные вещества, экстрагирование, субкритичная вода, антиоксидантная активность*

## 1. Введение

По данным FAO ООН (Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН), мировое производство винограда составляет более 76 млн. тонн в год. Производство винограда в Украине в последние годы растёт, и в 2016 году превысило 390 тыс. тонн [1].

В результате переработки винограда образуется до 20 % отходов – виноградных выжимок (ВВ), которые имеют богатый полисахаридный комплекс, содержат значительное количество фенольных веществ и лигнина. Выжимки состоят на 37...39 % (об общей массы) из кожицы; 15...34 % – из частичек мякоти, 1,0–3,3 % – из остатков гребней; 23...39 % – из семян. Исходная влажность выжимок зависит от качества отжима и колеблется от 50 до 60 %.

До 60 % от массы сухих ВВ составляют полисахариды [2], которые являются ценным сырьём для получения биологически активных веществ (БАВ) с высокими антиоксидантными свойствами, в том числе, полифенолов, галловой и винной кислоты и ее солей и др. [3].

Технологический запас полифенолов винограда в Украине превышает 500 тонн суммарных полифенолов в год. Таким образом, полифенолы винограда в нативном виде представляют собой в основном флавоноиды – плохо растворимые в воде вещества. При этом их распределение в ВВ соответствует: 12–20 % в кожице винограда, 1 % в мякоти, 60 % в семенах, 19–24 % в гребнях виноградной грозди [4].

Прогресс в изучении методов экстракции и анализа биологической активности полифенолов винограда связан с их широким использованием в пищевой, фармацевтической, косметологической отраслях [5].

При экстрагировании БАВ из растительного сырья широко применяются традиционные экстракционные методы (мацерация, ремацерация, перколяция, реперколяция) [6]. С целью их интенсификации разработаны различные способы электро- и магнитомпульсной обработки экстрагируемого сырья, использование центрифугирования и ультразвуковой обработка [7, 8].

В данных технологиях целевой продукт извлекается не полностью, процессы продолжительны по

времени, в извлечениях завышено содержание балластных веществ (высокомолекулярные соединения, пектины, слизи, белки и т. д.), высока трудоемкость процесса. В большинстве методов имеют место значительные потери экстрагента при диффузии и испарении. Используемые способы интенсификации данные процессов устраняют вышеперечисленные недостатки лишь частично, а некоторые из них существенно снижают качество получаемых экстрактов.

Применение при жидкостной экстракции модификаторов (соразтворителей), может изменить качественный (а, возможно, и количественный) состав получаемых экстрактов за счет полярности экстрагента.

Начиная с 90-х годов прошлого столетия, началась активная разработка методов суб- и сверхкритической флюидной экстракции [9, 10].

В качестве экстрагентов используют растворители с низкой температурой кипения – сжиженные газы: углекислый газ, гексан, пропан, аммиак, метан, этилен и некоторые другие соединения с невысокими критическими температурами. На первых этапах развития субкритических технологий экстрагирования наибольшее распространение получила  $\text{CO}_2$  экстракция. Однако необходимо иметь в виду, что углекислый газ есть одним из основных парниковых газов, как и метан, озон, оксиды азота и так далее. Кроме того некоторые флюидные вещества, как например, метан, относятся к токсическим веществам. Разработаны принципы, которым должны соответствовать «зеленые» (экологически чистые) методы экстрагирования, в том числе, и экстрагирование субкритической водой (СКВ) [11].

СКВ – вода в жидком состоянии под давлением до 21,8 МПа в температурном диапазоне между обычной точкой кипения (100 °С) и критической температурой (374 °С).

Наиболее эффективным методом экстракции растительного сырья в пищевой и фармацевтической отраслях в настоящее время является экстрагирование СКВ [12–14]. Термины, используемые для описания СКВ: «subcritical water», «high-temperature water», «superheated water», «pressurized hot water», «pressurised low polarity hot water».

Преимущества использования СКВ в качестве растворителя:

- сочетание свойств газов при высоком давлении (низкая вязкость, высокий коэффициент диффузии) и жидкостей (высокая растворяющая способность);
- сочетание пренебрежимо малого межфазного натяжения с низкой вязкостью и высоким коэффициентом диффузии;
- высокая чувствительность растворяющей способности к изменению давления или температуры;
- простота разделения СКВ и растворенных в ней веществ при сбросе давления;
- СКВ проникает в пористые структуры легче по сравнению с традиционно применяемыми жидкими растворителями.

Эти преимущества являются результатом изменения физико-химических свойств воды в субкритическом состоянии:

- константа диссоциации увеличивается практически на 2 порядка;
- уменьшается значение pH с 7,0 до 5,5;

– относительная диэлектрическая проницаемость уменьшается в 1,5–2,0 раза;

- теплота парообразования уменьшается в 1,5 раза;
- удельная теплоемкость возрастает в 2,0–2,5 раза;
- плотность воды уменьшается в 1,3–1,5 раза;
- динамическая вязкость уменьшается в 6–7 раз;
- поверхностное натяжение уменьшается в 2–3 раза;
- коэффициент самодиффузии возрастает на порядок;
- ионное произведение воды растет в зависимости от давления в 50–2000 раз [12].

Данные обстоятельства, а также низкая себестоимость СКВ, позволяют позиционировать процесс экстрагирования СКВ как наиболее эффективный и перспективный, из существующих в настоящее время.

В процессе экстрагирования СКВ происходят достаточно сложные физические биохимические преобразования: в условиях экстракции ВВ происходит автокатализируемый гидролиз полисахаридов. В качестве катализаторов выступают кислоты, имеющиеся в исходном сырье: винная, муравьиная, уксусная и др. Данные кислоты образуются в результате химических превращений под действием высокой температуры в процессе самой экстракции. Эти кислоты могут оказывать существенное влияние на протекающие процессы. Различные кислоты являются промежуточными или конечными продуктами реакций, протекающих при субкритической экстракции. Следовательно, показатель кислотности является важным показателем, характеризующим процесс экстракции, в т. ч. с точки зрения образования простых сахаров из полисахаридов.

В настоящее время экстрагирование СКВ БАВ из различных видов растений и водорослей в пищевой, косметологической и фармацевтической промышленности рассматривается как технология наиболее инновационная [13, 14].

Основная проблема, стоящая на пути полного использования ВВ – их высокая влажность, и необходимость их скорейшей переработки, чтобы исключить развитие плесневых грибов и предотвратить порчу. ВВ начинают портиться через 2–3 суток, а при высокой влажности воздуха (85–90 %) и повышенных температурах (25–40 °С) срок хранения составляет 8–12 часов. Следовательно, в качестве исходного сырья для экстрагирования БАВ целесообразно использовать сухие ВВ. При этом следует учитывать влияние режимов сушки на сохранность БАВ [15].

Актуальность проведенных исследований определяется рядом обстоятельств. Значительная часть предприятий по переработке винограда и винодельческой продукции в Украине в настоящее время требуют технологической и технической модернизации и предлагаемые технологии должны быть инновационными и высокоэффективными. Химический состав перерабатываемого сырья существенно зависит от почвенно-климатических условий и сортовых особенностей винограда, о чем свидетельствуют многочисленные, приведённые в литературных источниках данные о биохимическом составе ВВ [3]. Данные обстоятельства приводят к необходимости исследования процессов экстрагирования ВВ из тех сортов винограда, которые распространены в регионах расположения перерабатывающих предприятий, подлежащих модернизации.

## 2. Анализ литературных данных и постановка проблемы

Виноград обладает богатейшим набором БАВ, однако их содержание в различных частях плода (мякоть, кожура, гребни, косточки) различно [3, 5].

В настоящее время эффективность использования СКВ для извлечения различных БАВ из растительного сырья, в том числе и из винограда и ВВ не вызывает сомнений. Экстрагирование СКВ обеспечивает более полное их извлечение, имеет место селективность процесса по отношению к различным целевым продуктам и экологическая чистота получаемого экстракта [5, 12, 13, 16].

Сравнение стабильности антоцианов, извлеченных из виноградной кожуры субкритическим экстрагированием совместно с ультразвуком с результатами, полученными при микроволновой экстракции, показали, что влияние температуры и стойкость антоцианов различны [17].

Использование параметров процесса экстрагирования 2 МПа, 121 °С при продолжительности процесса 2 часа обеспечивают высокий выход фенолов и моносахаридов из кожицы винограда сортов Cabernet Sauvignon, Merlot, and Shiraz [18].

Ряд работ направлены на сравнительные исследования экстрагирования БАВ из ВВ при использовании как СКВ так и СКВ в сочетании с этанолом при их различном процентном соотношении [19]. При использовании в качестве экстрагента смеси воды и метанола (60:40) для экстрагирования одиннадцати антоцианов винограда оптимальными являются следующие параметры процесса: 100 °С в течение 5 мин. [20].

Для ускорения процесса экстрагирования и увеличения выхода антоцианов из ВВ красного винограда сорта Sunbelt рекомендовано использовать растворитель из смеси СКВ и 70 % этанола. При этом общее количество извлеченных антоцианов при 100 °С составило 450 мг/100 г. сухих выжимок [21].

При экстрагировании из виноградной кожуры и семян винограда Пино Неро СКВ в полунепрерывном режиме (10 МПа, 80–120 °С, 2–5-мл/мин в течение 2 часов) выход общих полифенолов увеличивается при увеличении температуры и уменьшении расхода растворителя.

Так, при увеличении температуры от 80 до 120 °С, выход общих полифенолов из кожуры увеличился от  $44,3 \pm 0,4$  до  $77 \pm 3$  мг/г и их косточек – от  $44 \pm 2$  до  $124 \pm 1$  мг/г [22].

Динамическое экстрагирование (скорость потока 1,2 мл/мин, 120 °С, давление 80 бар и длительность экстрагирования 30 мин) БАВ (антоцианы и фенольные соединения) из кожуры красного винограда, было осуществлено смесью СКВ и этанола при соотношении 1:1. По сравнению с традиционным динамическим жидкостным экстрагированием, выход выше в 3 раза для антоцианов; в 7 раз для общего количества фенольных соединений и в 11 раз для флавонолов. Кроме того, наилучшие результаты были получены при использовании кожицы винограда, высушенной в течение 24 часов при температуре 40 °С. Отмечено, что этанол резко ускоряет экстракцию антоцианинов и фенолов, вероятно потому, что он денатурирует клеточные мембраны и облегчает сольubilизацию этих соединений [23].

Сравнение результатов экстрагирования танина из виноградных косточек показало, что непрерывный режим более эффективен по сравнению со статическим режимом [24].

Следует отметить исследования, показывающие, что использование СКВ позволяет увеличить выход общего количества полифенолов по сравнению с экстрагированием 70 % этанолом в 2 раза [25]. Исследования экстрагирования ВВ СКВ подтвердили высокую эффективность данного процесса. Так, экстрагирование при 140 °С и давлении 11,6 МПа обеспечило высокий выход полифенолов, флавоноидов и антиоксидантную активность экстракта [26].

Следует подчеркнуть, что в большинстве рассмотренных работах не изучена возможность селективного извлечения отдельных БАВ из ВВ и получения рациональных параметров процесса для каждого из составляющих БАВ, которые были изучены.

Эффект от применения флавоноидов в основном обусловлен антиоксидантной активностью этих соединений. В то же время антиоксидантную активность рассматривают как функцию не отдельных групп флавоноидов, а всех полифенолов, в т. ч. танинов (танино-катехинового комплекса). Поэтому если флавоноиды рассматривать как антиокислительную добавку, то их целесообразно не отделять от дубильных веществ, а использовать совместно с последними.

При экстракции органическими растворителями доля фенольных веществ в получаемом экстракте существенно выше и представлены они в основном недубильными веществами. При экстракции СКВ при извлечении полифенолов проявляется ее малая селективность по отношению к этим соединениям. Это обстоятельство затрудняет выделение, разделение и очистку полифенольных веществ из экстрактов СКВ. Наблюдаемое существенное увеличение их выхода за счет танинов свидетельствует о целесообразности выделения и использования не отдельных фракций полифенолов, а всего танино-катехинового комплекса.

Представляют интерес результаты исследований процесса экстрагирования суммарных полифенолов из винограда и ВВ красного и белого сортов винограда с использованием СВЧ и СКВ (100–120 °С, 5–30 мин), а также использование смеси воды с (0–2,5 %) карбоната натрия. Рациональными параметрами при экстрагировании из винограда являются 100 °С при продолжительности экстракции 8 мин без добавления карбоната натрия. При экстрагировании полифенолов из ВВ рекомендовано использовать 2,5 % карбоната натрия. При этом выход суммарных полифенолов увеличивается при дополнительном использовании в процессе экстрагирования СВЧ [27].

Содержание БАВ, химические профили фенольных соединений и антоцианов, а также антиоксидантные свойства экстракта отличаются в зависимости от места выращивания, времени сбора урожая, окружающей среды произрастания, а также от способа их выделения [3].

Большинство методов экстрагирования полифенолов СКВ разрабатываются для ВВ из красных сортов винограда, т. к. общее количество полифенолов в красных сортах винограда по сравнению с белыми сортами выше. Кроме отсутствия антоцианов в ВВ из белых сортов винограда не наблюдается никаких существенных отличий в содержании БАВ [28].



Извлекаемые полифенолы имеют довольно широкий спектр био-физико-химических свойств, однако до настоящего времени нет единого протокола экстрагирования, который можно было бы считать оптимальным для всех изучаемых образцов [29]. Сравнение экстрактов, полученных из ВВ сорта *Albariño grapes*, собранных от 12 винодельческих заводов, расположенных в Галиции (Испания), подтвердили высокую эффективность экстрагирования СКВ.

Отмечены различия в содержании БАВ в полученных экстрактах: содержание галловой кислоты колебалось от  $0,06 \pm 0,00$  до  $0,17 \pm 0,03$  мг/г сухих веществ, катехина – от  $1,73 \pm 0,28$  до  $4,13 \pm 0,39$  мг/г, общих полифенолов, выраженных в мг галловой кислоты/г сухого экстракта, от  $29,1 \pm 3,4$  до  $42,5 \pm 1,8$ , общих флавонолов, выраженных в мг катехинов/г. сухого экстракта, – от  $10,4 \pm 1,7$  до  $20,4 \pm 0,7$ , общих флавоноидов в мг катехинов/г сухого экстракта, – от  $19,8 \pm 0,0$  до  $43,5 \pm 4,5$  [30].

Для извлечения максимального количества фенольных соединений, антоцианов и высокой антиоксидантной активности экстрактов при переработке ВВ из красных сортов винограда Каберне Совиньон, Мерло, Петит Вердо, Сира, Темпранильо и Тинтилла предложено использовать смесь воды и этанола (1:1). Параметры процесса экстрагирования составляли  $120^\circ\text{C}$ , 90 бар, скорости потока 5 г/мин и длительности экстрагирования 90 мин. [31].

Продуктам, содержащим суммарные полифенолы винограда, свойственен синергизм антиоксидантной активности. В связи с этим очевидно, что при создании биологически активных продуктов из винограда предпочтительным является получение суммарных полифенолов, растворенных в жидкой фазе.

В органических веществах основную роль играют три типа взаимодействий:

- 1) дисперсионное, возникающее за счет межмолекулярных сил притяжения;
- 2) межмолекулярное диполь-дипольное взаимодействие;
- 3) межмолекулярное водородное взаимодействие.

Параметр Хансена представляет параметр растворимости в виде трех составляющих, учитывающих энергию от дисперсионных сил между молекулами, энергию от дипольных сил между молекулами и энергию водородных связей между молекулами.

Данный параметр целесообразно использовать для описания и прогнозирования свойств растворителя, прогнозирования растворимости анализируемого вещества и определения оптимальных условий субкритического экстрагирования [32–34].

На сегодня существуют несколько моделей, которые успешно были использованы при описании процесса экстрагирования БАВ СКВ [35–37]. Наиболее перспективной представляется модель, построенная с использованием ренормгрупповых методов. Данная модель позволяет учитывать тепломассообменные свойства и содержание БАВ в каждой из составляющих многокомпонентного полидисперсного экстрагента – кожицы, косточек, гребней, мякоти [38].

В различных сортах винограда содержание БАВ и их количество различно. Исходя из этого, исследования по изучению процесса экстрагирования БАВ из винограда и ВВ ориентированы на определение рациональных параметров процесса исключительно для изучаемого ис-

ходного сырья. Таким образом следует констатировать, что в настоящее время не исследован процесс экстрагирования СКВ из ВВ столового сорта винограда Молдова, который широко распространен в Украине, Республике Молдова, в ряде Европейских стран.

### 3. Цель и задачи исследования

Целью исследований являлось изучение особенностей процесса экстрагирования ВВ СКВ и выход различных целевых продуктов – БАВ.

Для достижения поставленной цели решены следующие задачи:

- изучить влияние технологических параметров процесса экстрагирования СКВ (гидромодуль, температура, давление) и размера фракции сухих ВВ на выход различных целевых продуктов – БАВ;
- определить рациональные параметры процесса экстрагирования СКВ на выход различных целевых продуктов – БАВ.

### 4. Используемое сырье, оборудование и методы исследования процесса экстрагирования и получаемых целевых продуктов

*Исходное сырье.* Для получения ВВ использован столовый сорт винограда Молдова (производителей – Республика Молдова). Средний вес грозди до 350 граммов. Ягода крупная ( $2,5 \times 1,9$  см), овальная, темно-фиолетовая, с густым восковым налетом. Кожица толстая, плотная, прочная. Мякоть мясистая, хрустящая.

Дробление ягоды вместе с гребнями осуществлялось на соковыжималке и отжимали до влажности промышленного жмыха – 55 %. Для анализа исходных характеристик, ВВ подвергали анализу с определением наиболее значимых групп соединений по общепринятым методикам [39].

*В качестве целевых продуктов* в данном исследовании были приняты: сухие вещества, суммарное содержание полифенольных соединений полифенолов (танино-катехинового комплекса), редуцирующие вещества, виннокислые соединения, галловая кислота, фурфурол, а также антиоксидантная активность полученных экстрактов.

Более детально использованное сырье, оборудование и методы исследования процесса экстрагирования и получаемых целевых продуктов описаны в работе [40].

### 5. Результаты исследований влияния параметров процесса экстрагирования ВВ СКВ на выход целевых продуктов

Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований в программном пакете Microsoft Excel 2010 позволила получить регрессионные зависимости (2)–(9) выхода сухих веществ (СВ), полифенолов (Ф), редуцирующих веществ (РВ) и кислотность экстракта (К) от температуры и время выдержки (табл. 1).

Результаты регрессионного анализа с использованием коэффициента корреляции ( $R$ ), коэффи-

циента детерминации ( $D$ ), среднеквадратичного отклонения ( $\sigma$ ), критерий Фишера ( $F_{\text{расч.}} > F_{\text{табл.}}$ ) при доверительном интервале коэффициентов модели при уровне ошибки  $\alpha=0,05$  (уровне надежности 95 %) свидетельствовали об адекватности полученных уравнений.

Поверхности отклика для исследуемых целевых продуктов, соответствующие полученным зависимостям, представлены на рис. 1.

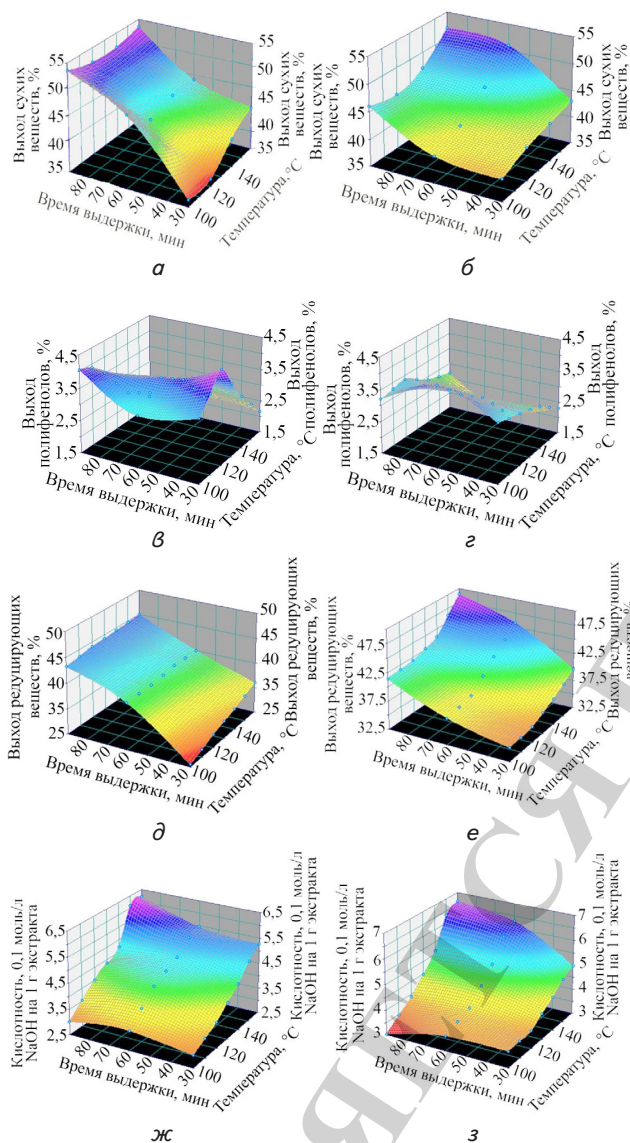


Рис. 1. Поверхности отклика для исследуемых целевых продуктов: а – выхода сухих веществ на рабочую массу при гидромодуле 1:5; б – выхода сухих веществ на рабочую массу при гидромодуле 1:10; в – выход полифенолов (танино-катехинового комплекса) при гидромодуле 1:5; г – выход полифенолов (танино-катехинового комплекса) при гидромодуле 1:10; д – выхода редуцирующих веществ при гидромодуле 1:5; е – выхода редуцирующих веществ при гидромодуле 1:10; ж – титруемая кислотность при гидромодуле 1:5; з – титруемая кислотность при гидромодуле 1:10

Основными продуктами дегидратации сахаров являются фурфурол, образующийся из пентоз и уроновых кислот и оксиметилфурфурол, образующийся из гексоз, главным образом из глюкозы.

Результаты идентификации экстракта на наличие фурфурола методом ЯМР излучением с частотой  $\nu$ :  $^1\text{H}$  – 400 МГц, при температуре 293 К приведены на рис. 2.

Таблица 1

Зависимости выхода сухих веществ (СВ), полифенолов (Ф), редуцирующих веществ (РВ) и кислотность экстракта (К) от температуры и время выдержки

Обозначение поверхности на рис. 1	Зависимости	Коэффициент корреляции, R	№ формулы
а	$\text{СВ} = 14,649 + 0,103 \cdot t + 0,360 \cdot \tau - 0,0014 \cdot t \cdot \tau$	0,987	(2)
б	$\text{СВ} = 28,971 + 0,0745 \cdot t + 0,0270 \cdot \tau + 0,0006 \cdot t \cdot \tau$	0,950	(3)
в	$\Phi = -5,902 + 0,164 \cdot t + 0,019 \cdot \tau - 0,00019 \cdot t \cdot \tau - 0,00069 \cdot t^2$	0,906	(4)
г	$\Phi = 7,086 - 0,021 \cdot t + 0,002 \cdot \tau$	0,881	(5)
д	$\text{РВ} = 9,189 + 0,1071 \cdot t + 0,3172 \cdot \tau - 0,00104 \cdot t \cdot \tau$	0,992	(6)
е	$\text{РВ} = 23,04 + 0,078 \cdot t + 0,034 \cdot \tau + 0,00066 \cdot t \cdot \tau$	0,969	(7)
ж	$\text{К} = 3,281 + 0,0053 \cdot t - 0,0771 \cdot \tau + 0,000669 \cdot t \cdot \tau$	0,971	(8)
з	$\text{К} = 0,281 + 0,0271 \cdot t - 0,0262 \cdot \tau + 0,000271 \cdot t \cdot \tau$	0,972	(9)

Примечание: \* – где  $t$  – температура экстракции, °С;  $\tau$  – время выдержки, мин

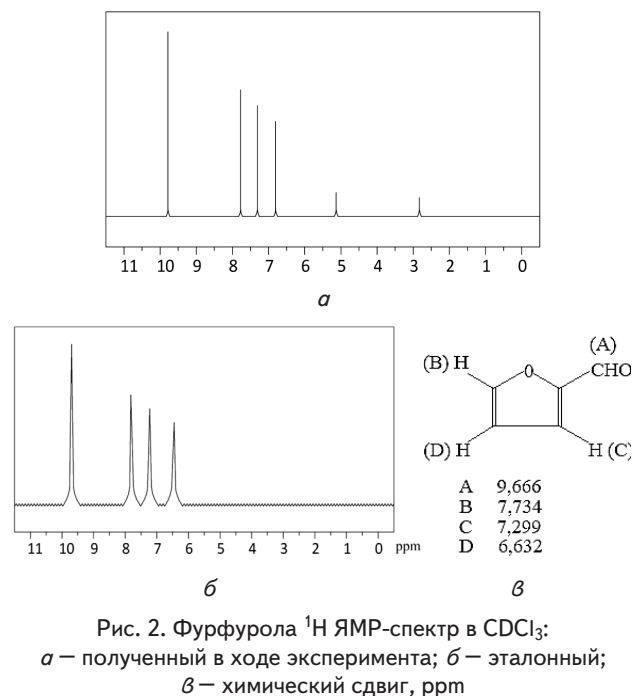


Рис. 2. Фурфурола  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр в  $\text{CDCl}_3$ : а – полученный в ходе эксперимента; б – эталонный; в – химический сдвиг, ppm

Результаты идентификации экстракта излучением с частотой  $\nu$ :  $^{13}\text{C}$  – 100 МГц при температуре 293 К приведены на рис. 3.

Положение сигналов ЯМР (химический сдвиг) – распределение электронной плотности по молекуле – на полученном спектре практически полностью совпадает с эталонным. Качественный анализ составов экстрактов, полученных в среде СКВ, показал, что извлеченное вещество действительно является фурфуролом.

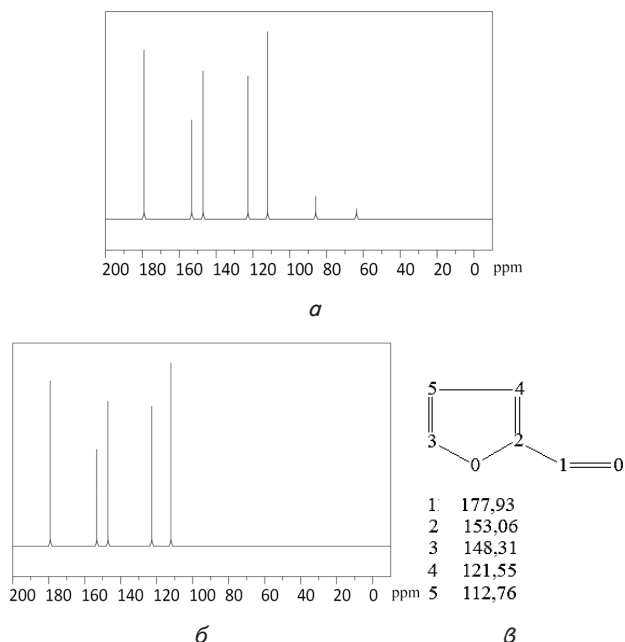


Рис. 3. Фурфурола  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектр в  $\text{CDCl}_3$ :  
а – полученный в ходе эксперимента; б – эталонный;  
в – химический сдвиг, ppm

Для получения танинов при экстракции СКВ был использован экстракт, полученный при 100 °С, гидро-модуле 1:10 и времени выдержки 30 мин.

Результаты идентификации экстракта излучением с частотой  $\nu$ :  $^1\text{H}$  – 400 МГц, при температуре 293 К приведены на рис. 4 и с частотой  $\nu$ :  $^{13}\text{C}$  – 100 МГц при температуре 293 К – на рис. 5.

Полученные спектры практически полностью совпадают с эталонным, что свидетельствуют о том, что выделенное вещество – это действительно галловая кислота.

На спектрах (рис. 4, 5) наблюдаются дополнительные пики, не соответствующие резонансу атомов фурфурола и галловой кислоты. Это объясняется наличием незначительного количества примесей. По этой же причине высота пиков несколько меньше эталонной.

Выход галловой кислоты от исходных дубильных веществ составил 15 %.

Экспериментальные результаты кинетики ингибирования свободных радикалов (процента ДФПГ, оставшегося в устойчивом состоянии) при гидро-модуле 1:5 показаны на рис. 6, при гидро-модуле 1:10 – на рис. 7.

В результате восстановления DPPH антиоксидантом (экстрактами ВВ) снижалась пурпурно-синяя окраска DPPH в метаноле до желтого, реакция контролировалась по изменению оптической плотности при длине волны 514 нм.

Используя полученные данные, определили антиоксидантную активность экстракта по формуле (1).

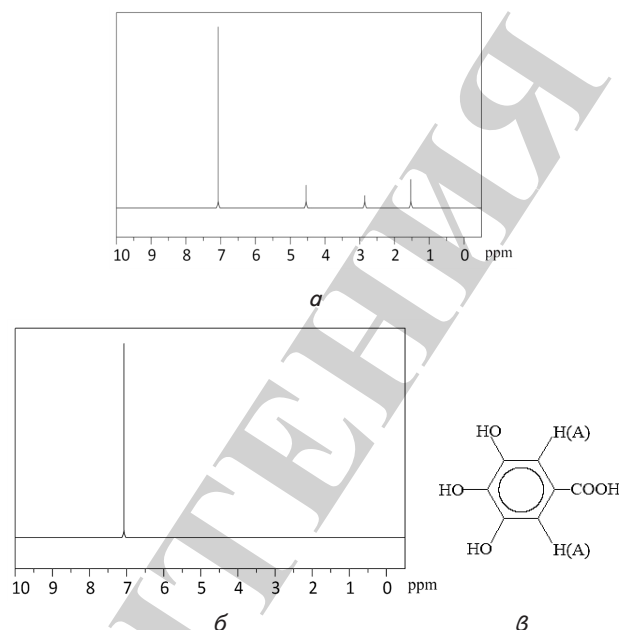


Рис. 4. Галловой кислоты  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр в  $\text{D}_2\text{O}$ :  
а – полученный в ходе эксперимента; б – эталонный;  
в – химический сдвиг, ppm: D(A) 7.093

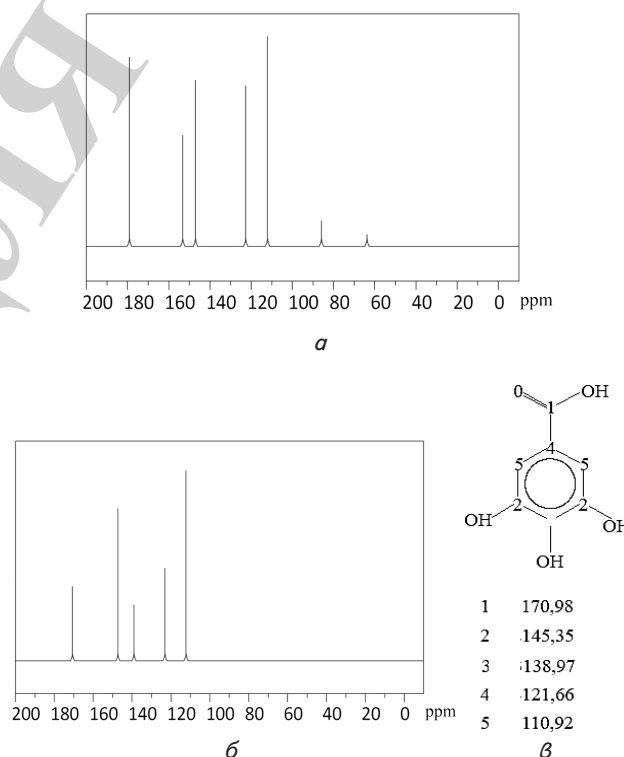


Рис. 5. Галловой кислоты  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектр в  $\text{D}_2\text{O}$ :  
а – полученный в ходе эксперимента; б – эталонный;  
в – химический сдвиг, ppm

Антиоксидантная активность экстрактов ВВ при гидро-модулях 1:5 и 1:10 описаны соответствующими регрессионными уравнениями (10) и (11):

$$AA = 117,1 - 0,45 \cdot t + 0,08 \cdot \tau, \quad (R=0,907), \quad (10)$$

$$AA = 120,64 - 0,36 \cdot t + 0,03 \cdot \tau, \quad (R=0,881), \quad (11)$$



где  $t$  – температура экстракции, °C;  $\tau$  – время выдержки, мин.

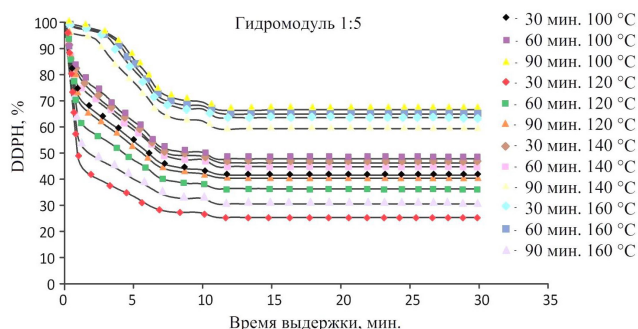


Рис. 6. Кинетические кривые взаимодействия экстрактов ВВ (гидро модуль 1:5) со свободным радикалом DPPH

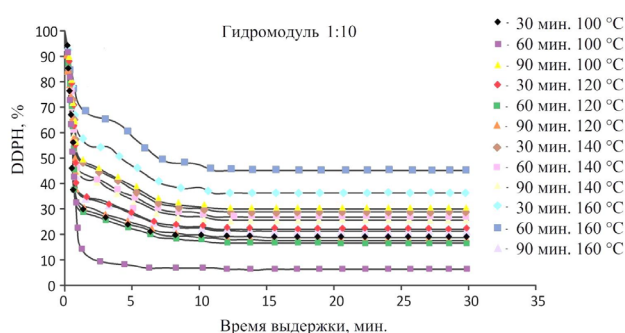


Рис. 7. Кинетические кривые взаимодействия экстрактов ВВ (гидро модуль 1:10) со свободным радикалом DPPH

## 6. Обсуждение результатов исследований влияния параметров процесса экстрагирования ВВ СКВ на выход целевых продуктов

Высокий выход общих экстрактивных веществ уже при 100 °C и 30 мин. (31,9 % при гидро модуле 1:5 и 39,4 % при гидро модуле 1:10) можно объяснить следующими факторами:

- остаточной сахаристостью несбродивших ВВ;
- частичным гидролизом пектиновых веществ, уоновых кислот и слизей.

Очевидно, что этот процесс активно протекать уже при сушке, когда ВВ подвергались действию высоких температур на протяжении значительного промежутка времени. Благодаря собственным органическим кислотам создается кислая среда, что может катализировать процесс гидролиза. Однако выход сухого экстракта и редуцирующих веществ из исходного жмыха был лишь незначительно меньше – на 2–3 % (абс.), чем из высушенного. Это можно объяснить высокой насыщенностью свободной воды в жмыхе растворимыми веществами и прежде всего сахарами. Высокая концентрация растворимых веществ препятствует гидролизу полисахаридов и переходу в раствор других соединений [41–44].

В процессе экстракции при гидро модуле 1:5 эти же факторы приводят к меньшему выходу сухого экстракта, чем при гидро модуле 1:10. Особенно это заметно при времени выдержки 30 мин. При уменьшении гидро модуля увеличивается концентрация экстракта,

что приводит к ускорению процессов термодеструкции при высоких температурах.

Следует отметить, что при 160 °C наблюдалось значительное набухание экстрагируемой массы. При этой температуре, гидро модуле 1:5 и времени выдержки 90 мин. в массе после экстракции визуально не наблюдалось свободной воды. Это свидетельствует о недостаточности гидро модуля 1:5.

При высоких температурах выход сухого экстракта определяется соотношением двух процессов: образованием и переходом в экстракт водорастворимых соединений и их разложением под действием температуры и кислотности. Основной вклад в увеличение выхода экстракта вносит процесс гидролиза полисахаридов с переводом их в растворимые соединения (олигосахариды, декстрины, моносахариды). Гидролиз пектинов сопровождается отщеплением уксусной кислоты.

С возрастанием времени выдержки и температуры до 140 °C выход экстракта увеличивается. При 140 °C увеличиваются скорости гидролиза гемицеллюлоз и разложения моносахаридов. При этом образуются сильные органические кислоты – муравьиная и уксусная, увеличение концентрации которых приводит к ускорению гидролиза и разложения сахаров. Распад сахаров приводит также к образованию оксиметилфурфурола, фурфурола, гуминовых веществ и др.

При промывке сладких выжимок горячей водой выход сухого экстракта составляет до 15 % от массы абсолютно сухих ВВ. При этом основная масса экстракта – это углеводы (в основном свободные моносахариды) и кислые соединения. При экстракции СКВ выход экстракта минимум в 2 раза больше. Увеличение выхода экстракта объясняется образованием водорастворимых углеводов из полисахаридов, также наблюдается значительное количество полифенольных соединений.

Экстракция СКВ при 160 °C по степени конверсии растительного материала сопоставима с кислотным гидролизом древесины. Но при кислотном гидролизе растворение растительных компонентов проходит при более жестких условиях: температура до 180 °C и присутствие серной кислоты. Поэтому, при использовании СКВ образования нежелательных продуктов (прежде всего в результате разложения углеводов) будет существенно меньше при аналогичной технологической схеме и, соответственно, выход целевых продуктов выше. Кроме того, по сравнению с каталитическим гидролизом отпадает необходимость нейтрализации серной кислоты с образованием малолетучего, трудно утилизируемого отхода – гипса, загрязненного органическими соединениями.

Процесс выделения полифенольных соединений полифенолов (танино-катехинового комплекса) является результатом протекания двух противоположных процессов:

- 1) переход полифенольных соединений в раствор;
- 2) вторичные превращения полифенольных соединений, приводящие к деградации или переходу в нерастворимое состояние и выпадение в осадок.

Выход полифенольных соединений при экстракции СКВ значительно (максимально выход увеличивается в 10 раз) превосходит количество полифенолов, получаемых при экстракции органическими растворителями и водой, при температурах до 60 °C. Столь существенное увеличение является результатом пере-

хода в раствор дубильных веществ (танинов) и продуктов их гидролиза под действием высоких температур и кислой среды.

Количественный анализ сахаров экстракта ВВ определяли через выход редуцирующих веществ в пересчете на глюкозу.

Для каждого гидро модуля с увеличением температуры и времени выдержки происходит увеличение выхода редуцирующих веществ. Выход для гидро модуля 1:10 для соответствующих температур и времени выдержки значительно выше (на 20–30 %), чем для гидро модуля 1:5. Это объясняется высокой концентрацией раствора во втором случае. Высокая концентрация в соответствии с законами химической кинетики приводит к существенному ускорению реакций распада. Конечными продуктами распада сахаров являются гуминовые вещества, которые не проявляют редуцирующей активности.

Для гидро модуля 1:5 наблюдается определенный рост выхода РВ с увеличением температуры. Однако он существенно ниже, чем для модуля 1:10 и стабилизируется уже при 120–130 °С. Это объясняется высокой скоростью разнообразных химических превращений образующихся сахаров в растворах с относительно высокой концентрацией экстрагируемых веществ.

С увеличением температуры при гидро модуле 1:10 до 120 °С наблюдается незначительный рост выхода РВ. При температуре 120–150 °С происходит значительный рост сахаров, что объясняется гидролизом легкогидролизуемых полисахаридов (гемипеллюлозы, пектиновые вещества, урсонные кислоты и т. др.). Выше 150 °С количество извлеченных РВ стабилизируется практически на одном уровне, поэтому работа в условиях стационарной экстракции нецелесообразна. Однако при непрерывном способе (т. е. при уменьшении времени пребывания сахаров в реакционном объеме) возможна работа при более высоких температурах с увеличением выхода РВ.

При анализе кислотности полученных экстрактов в пересчете на винную кислоту была отмечена высокая титруемая кислотность полученных экстрактов. При гидро модуле 1:10 кислотность при 100–120 °С выше для любой продолжительности выдержки, чем при гидро модуле 1:5. Это объясняется большей разбавленностью раствора при 1:10, а соответственно и большей растворяющей способностью. При этих температурах функция кислотности проходит через максимум во времени. Это объясняется соотношением степени извлечения винной кислоты из твердой фазы и ее химическими превращениями при повышенной температуре.

При 140–160 °С картина несколько иная. Большая кислотность у экстрактов, полученных при гидро модуле 1:5. Это объясняется гидролизом полисахаридов и разложением сахаров с образованием сильных органических кислот – муравьиной и уксусной, а также ряда слабых – левоулиновой, глюкозоизосахаридовой, ксилозоизосахаридовой, молочной кислот. При меньшем гидро модуле концентрация сахаров в растворе больше, соответственно, и скорость разложения выше. Повышается титруемая кислотность экстракта. При увеличении времени выдержки степень разложения сахаров увеличивается, следовательно, и увеличивается кислотность.

Соответственно образованию и превращениям органических кислот изменяется состав сухого экстракта, полученного выпариванием воды. Винная и левоулиновая кислоты малолетучи. Они практически полностью остаются в сухом экстракте. Муравьиная и уксусная кислоты, наоборот, легколетучие. Поэтому кислотность сухих экстрактов, полученных выпариванием, меньше кислотности неупаренных растворов.

Выход кислот при относительно невысоких температурах экстракции (100–120 °С) СКВ сопоставим с количеством виннокислых соединений (в пересчете на винную кислоту), получаемых промывкой сладких выжимок горячей водой. При промывке горячей водой извлечение виннокислых соединений достигает 80 % и более от их содержания в сырье. Таким образом, при 100–120 °С удается практически полностью извлечь винную кислоту.

При более высоких температурах (>120 °С) органических кислот образовывалось до 2–3 раз больше, чем при кислотном гидролизе древесины при 160–180 °С. Это преимущественно объясняется способом организации процесса. При традиционном гидролизе древесины разбавленной кислотой (метод перколяции) гидролизат из гидролиз-аппарата при гидро модуле 1:10 отбирается непрерывно, что существенно снижает разложение образующихся моносахаридов. Описываемые эксперименты проводились в стационарных условиях. Следует ожидать, что при перколяционном способе организации экстракции количество свободных кислот также значительно снизится. Но в любом случае при высокотемпературной экстракции будет образовываться значительное количество муравьиной и уксусной кислоты. Поэтому необходимо предусмотреть их извлечение.

Скорости падения кривых характеризует скорость связывания свободных радикалов (рис. 6, 7). Следовательно, при гидро модуле 1:5 быстрее всего связываются свободные радикалы экстрактом ВВ, полученным в среде СКВ при температуре 120 °С и времени выдержки 30 мин.

При гидро модуле 1:10 высокая скорость связывания свободных радикалов наблюдалась при реакции с экстрактом ВВ, экстрагированным в среде СКВ при температуре 100 °С и времени выдержки 60 мин.

Результатами исследований было установлено, что экстракты ВВ, полученные в среде СКВ, обладают высокой антиоксидантной активностью от 33 % до 94 % по отношению к стабильным ДФПГ свободным радикалам. Наиболее быстро связывают свободные радикалы экстракты виноградной выжимки, полученные при гидро модуле 1:10, температуре 100 °С и времени выдержки 60 мин. Значения антирадикальной активности при этих параметрах – 94,01 %.

## 7. Выводы

1. В результате проведенных исследований экстрагирования СКВ ВВ винограда сорта Молдова установлено, что наибольшее влияние на выход БАВ из ВВ оказывает температура процесса экстрагирования. Выделять из ВВ целесообразно не отдельные фракции полифенолов, а весь танино-катехиновый комплекс. Экстракты, полученные в результате экстрагирования ВВ



СКВ, целесообразно использовать для последующего получения фурфурола и галловой кислоты. Использование сухих ВВ фракции 3 мм обеспечивает максимальный выход целевых продуктов.

2. Максимальный выход сухих веществ при экстрагировании ВВ СКВ обеспечивается следующими параметрами процесса:  $T=150-160\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\tau=90\text{ мин.}$ ,  $P=12\text{ МПа}$  и гидромодуле 1:10. Рациональные параметры процесса экстрагирования ВВ СКВ при извлечении общих полифенолов:  $T=100-110\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\tau=60\text{ мин.}$ ,  $P=12\text{ МПа}$  и гидромодуле 1:10. Экстракты, полученные при данных па-

раметрах, обладают высокой антиоксидантной активностью – 94,01 %. Рациональные параметры процесса экстрагирования ВВ СКВ при извлечении редуцирующих веществ:  $T=150-160\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\tau=90\text{ мин.}$ ,  $P=12\text{ МПа}$  и гидромодуле 1:10. Данные параметры обеспечивают извлечение до 50 % редуцирующих веществ. Высокая титруемая кислотность полученных экстрактов (6,649, 0,1 моль/л NaOH на 1 г экстракта, мл) обеспечивается экстрагированием ВВ при следующих параметрах процесса:  $T=150-160\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\tau=90\text{ мин.}$ ,  $P=12\text{ МПа}$  и гидромодуле 1:5.

#### Литература

1. World Vitiviniculture Situation. OIV Statistical Report on World Vitiviniculture [Text]. – Paris: International Organization of Vine and Wine, 2016. – 16 p.
2. Issa, G. (Jason) Chemical composition of composted grape marc [Text] / G. (Jason) Issa, A. F. Patti, G. (Jason) Issa, R. Smernik, K. Wilkinson // Water Science & Technology. – 2009. – Vol. 60, Issue 5. – P. 1265. doi: 10.2166/wst.2009.564
3. Wang, X. Chemical characterization and antioxidant evaluation of muscadine grape pomace extract [Text] / X. Wang, H. Tong, F. Chen, J. D. Gangemi // Food Chemistry. – 2010. – Vol. 123, Issue 4. – P. 1156–1162. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.05.080
4. Hamatschek, J. Extraktion der Polyphenole von der Traubennahme bis zur Abfüllung unter besonderer Berücksichtigung der Entsaftung durch Dekanter [Text] / J. Hamatschek, O. Meckler // Mitteilungen Klosterneuburg. – 1995. – Vol. 45, Issue 3. – P. 75–81.
5. Xia, E.-Q. Biological Activities of Polyphenols from Grapes [Text] / E.-Q. Xia, G.-F. Deng, Y.-J. Guo, H.-B. Li // International Journal of Molecular Sciences. – 2010. – Vol. 11, Issue 2. – P. 622–646. doi: 10.3390/ijms11020622
6. Коничев, А. С. Традиционные и современные методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства, недостатки [Текст] / А. С. Коничев, П. В. Баурин и др. // Вестник МГУ. Серия «Естественные науки». – 2011. – № 3. – С. 49–54.
7. Boussetta, N. Valorisation of grape pomace by the extraction of phenolic antioxidants: Application of high voltage electrical discharges [Text] / N. Boussetta, E. Vorobiev, V. Deloison, F. Pochez, A. Falcimaigne-Cordin, J.-L. Lanoisellé // Food Chemistry. – 2011. – Vol. 128, Issue 2. – P. 364–370. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.03.035
8. Galvan d'Alessandro, L. Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry [Text] / L. Galvan d'Alessandro, K. Kriaa, I. Nikov, K. Dimitrov // Separation and Purification Technology. – 2012. – Vol. 93. – P. 42–47. doi: 10.1016/j.seppur.2012.03.024
9. Kronholm, J. Analytical extractions with water at elevated temperatures and pressures [Text] / J. Kronholm, K. Hartonen, M.-L. Riekkola // TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2007. – Vol. 26, Issue 5. – P. 396–412. doi: 10.1016/j.trac.2007.03.004
10. Teo, C. C. Pressurized hot water extraction (PHWE) [Text] / C. C. Teo, S. N. Tan, J. W. H. Yong, C. S. Hew, E. S. Ong // Journal of Chromatography A. – 2010. – Vol. 1217, Issue 16. – P. 2484–2494. doi: 10.1016/j.chroma.2009.12.050
11. Chemat, F. Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles [Text] / F. Chemat, M. A. Vian, G. Cravotto // International Journal of Molecular Sciences. – 2012. – Vol. 13, Issue 12. – P. 8615–8627. doi: 10.1002/9783527676828
12. Plaza, M. Pressurized hot water extraction of bioactives [Text] / M. Plaza, C. Turner // TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2015. – Vol. 71. – P. 39–54. doi: 10.1016/j.trac.2015.02.022
13. Zakaria, S. M. Subcritical Water Extraction of Bioactive Compounds from Plants and Algae: Applications in Pharmaceutical and Food Ingredients [Text] / S. M. Zakaria, S. Mazlina M. Kamal // Food Engineering Reviews. – 2015. – Vol. 8, Issue 1. – P. 23–34. doi: 10.1007/s12393-015-9119-x
14. Liang, X. Application of Sub-Critical Water Extraction in Pharmaceutical Industry [Text] / X. Liang, Q. Fan // Journal of Materials Science and Chemical Engineering. – 2013. – Vol. 01, Issue 05. – P. 1–6. doi: 10.4236/msce.2013.15001
15. Бондакова (Кривченкова), М. В. Совершенствование способов получения экстракта винограда с целью его дальнейшего использования при производстве косметических изделий [Текст] / М. В. Бондакова (Кривченкова), Е. В. Клышинская, С. Н. Бутова // Новые химико-фармацевтические технологии. – 2012. – С. 154–157.
16. Rajha, H. N. Extraction of Total Phenolic Compounds, Flavonoids, Anthocyanins and Tannins from Grape Byproducts by Response Surface Methodology. Influence of Solid-Liquid Ratio, Particle Size, Time, Temperature and Solvent Mixtures on the Optimization Process [Text] / H. N. Rajha, N. E. Darra, Z. Hobaika, N. Boussetta, E. Vorobiev, R. G. Maroun, N. Louka // Food and Nutrition Sciences. – 2014. – Vol. 05, Issue 04. – P. 397–409. doi: 10.4236/fns.2014.54048
17. Liqid, A. Stability of Anthocyanins from Red Grape Skins under Pressurized Liquid Extraction and Ultrasound-Assisted Extraction Conditions [Text] / A. Liqid, G. Barbero, L. Azaroual, M. Palma, C. Barroso // Molecules. – 2014. – Vol. 19, Issue 12. – P. 21034–21043. doi: 10.3390/molecules191221034

18. Arnous, A. Comparison of methods for compositional characterization of grape (*Vitis vinifera* L.) and apple (*Malus domestica*) skins [Text] / A. Arnous, A. S. Meyer // *Food and Bioproducts Processing*. – 2008. – Vol. 86, Issue 2. – P. 79–86. doi: 10.1016/j.fbp.2008.03.004
19. Da Porto, C. Water and ethanol as co-solvent in supercritical fluid extraction of proanthocyanidins from grape marc: A comparison and a proposal [Text] / C. Da Porto, D. Decorti, A. Natolino // *The Journal of Supercritical Fluids*. – 2014. – Vol. 87. – P. 1–8. doi: 10.1016/j.supflu.2013.12.019
20. Liazid, A. Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins [Text] / A. Liazid, R. F. Guerrero, E. Cantos, M. Palma, C. G. Barroso // *Food Chemistry*. – 2011. – Vol. 124, Issue 3. – P. 1238–1243. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.053
21. Monrad, J. K. Subcritical Solvent Extraction of Anthocyanins from Dried Red Grape Pomace [Text] / J. K. Monrad, L. R. Howard, J. W. King, K. Srinivas, A. Mauromoustakos // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2010. – Vol. 58, Issue 5. – P. 2862–2868. doi: 10.1021/jf904087n
22. Duba, K. S. Extraction of polyphenols from grape skins and defatted grape seeds using subcritical water: Experiments and modeling [Text] / K. S. Duba, A. A. Casazza, H. B. Mohamed, P. Perego, L. Fiori // *Food and Bioproducts Processing*. – 2015. – Vol. 94. – P. 29–38. doi: 10.1016/j.fbp.2015.01.001
23. Luquerodriguez, J. Dynamic superheated liquid extraction of anthocyanins and other phenolics from red grape skins of winemaking residues [Text] / J. Luquerodriguez, M. Luquedecastro, P. Perezjuan // *Bioresource Technology*. – 2007. – Vol. 98, Issue 14. – P. 2705–2713. doi: 10.1016/j.biortech.2006.09.019
24. Garcia-Marino, M. Recovery of catechins and proanthocyanidins from winery by-products using subcritical water extraction [Text] / M. Garcia-Marino, J. C. Rivas-Gonzalo, E. Ibanez, C. Garcia-Moreno // *Analytica Chimica Acta*. – 2006. – Vol. 563, Issue 1-2. – P. 44–50. doi: 10.1016/j.aca.2005.10.054
25. Antuon, I. D. Use of sub-critical water for the extraction of natural antioxidants from by-products and wastes of the food industry [Text] / I. D. Antuon // 14th Workshop on the Developments in the Italian PhD Research on Food Science Technology and Biotechnology. – Italy: University of Sassari Oristano, 2009. – P. 16–18.
26. Aliakbarian, B. Extraction of antioxidants from winery wastes using subcritical water [Text] / B. Aliakbarian, A. Fathi, P. Perego, F. Dehghani // *The Journal of Supercritical Fluids*. – 2012. – Vol. 65. – P. 18–24. doi: 10.1016/j.supflu.2012.02.022
27. Brahim, M. Optimization of polyphenols extraction from grape residues in water medium [Text] / M. Brahim, F. Gambier, N. Brosse // *Industrial Crops and Products*. – 2014. – Vol. 52. – P. 18–22. doi: 10.1016/j.indcrop.2013.10.030
28. Kammerer, D. Polyphenol Screening of Pomace from Red and White Grape Varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS [Text] / D. Kammerer, A. Claus, R. Carle, A. Schieber // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2004. – Vol. 52, Issue 14. – P. 4360–4367. doi: 10.1021/jf049613b
29. Escribano-Bailon M. Polyphenol extraction from foods [Text] / M. Escribano-Bailon, C. Santos-Buelga; C. Santos-Buelga, G. Williamson (Eds.) // *Methods in polyphenol analysis*. – United Kingdom: The Royal Society of Chemistry, 2003. – P. 1–16.
30. Alvarez-Casas, M. Effect of experimental parameters in the pressurized solvent extraction of polyphenolic compounds from white grape marc [Text] / M. Alvarez-Casas, C. Garcia-Jares, M. Llompart, M. Lores // *Food Chemistry*. – 2014. – Vol. 157. – P. 524–532. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.02.078
31. Otero-Pareja, M. Green Extraction of Antioxidants from Different Varieties of Red Grape Pomace [Text] / M. Otero-Pareja, L. Casas, M. Fernandez-Ponce, C. Mantell, E. Ossa // *Molecules*. – 2015. – Vol. 20, Issue 6. – P. 9686–9702. doi: 10.3390/molecules20069686
32. Hansen, C. Hansen solubility parameters [Text] / C. Hansen. – Boca Raton: CRC Press, 2007. – 544 p. doi: 10.1201/9781420006834
33. Srinivas, K. Optimization of Subcritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds Using Hansen Solubility Parameters [Text] / K. Srinivas, J. W. King, J. K. Monrad, L. R. Howard, C. M. Hansen // *Journal of Food Science*. – 2009. – Vol. 74, Issue 6. – P. E342–E354. doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01251.x
34. King, J. W. Multiple unit processing using sub- and supercritical fluids [Text] / J. W. King, K. Srinivas // *The Journal of Supercritical Fluids*. – 2009. – Vol. 47, Issue 3. – P. 598–610. doi: 10.1016/j.supflu.2008.08.010
35. Haghighi, A. Subcritical Water Extraction [Text] / A. Haghighi, M. Khajenoori // *Mass Transfer – Advances in Sustainable Energy and Environment Oriented Numerical Modeling*. – 2013. doi: 10.5772/54993
36. Khajenoori, M. Proposed Models for Subcritical Water Extraction of Essential Oils [Text] / M. Khajenoori, A. Haghighi Asl, F. Hormozi // *Chinese Journal of Chemical Engineering*. – 2009. – Vol. 17, Issue 3. – P. 359–365. doi: 10.1016/s1004-9541(08)60217-7
37. Khajenoori, M. CFD modeling of subcritical water extraction [Text] / M. Khajenoori, E. Omidbakhsh, F. Hormozi, Asl A. Haghighi // *The 6th International chemical Engineering Congress (ICHEC)*. – Kish Island, Iran: Association of Chemical Engineers, 2009. – Available at: [https://www.civilica.com/Paper-ICHEC06-ICHEC06\\_250.html](https://www.civilica.com/Paper-ICHEC06-ICHEC06_250.html)
38. Sukmanov, V. Physical and mathematical modeling of extraction from grape marc by subcritical water [Text] / V. Sukmanov, L. Gaceu, V. Zakharevych, A. Marynin, I. Rogovyi, A. Farisieiev // *Journal of EcoAgriToursim*. – 2016. – Vol. 12, Issue 1. – P. 83–93.
39. Оленников, Д. Н. Методика количественного определения группового состава углеводного комплекса растительных объектов [Текст] / Д. Н. Оленников, Л. М. Танхаева // *Химия растительного сырья*. – 2006. – № 4. – С. 29–33.

40. Sukmanov, V. Establishing the equipment-methodical support for determining the properties of extracts of grape pomace extracts produced in the subcreative water environment [Text] / V. Sukmanov, A. Ukrainets, V. Zavialov, A. Marynin // EUREKA: Life Sciences. – 2017. – Issue 5. – P. 18–25. doi: 10.21303/2504-5695.2017.00434
41. Сукманов, В. О. Аппаратурное оформление процесса экстрагирования биологически активных веществ из выжимок винограда в среде субкритической воды [Текст] / В. О. Сукманов, Ю. М. Петрова, И. О. Лаговский // Актуальні проблеми та перспективи розвитку харчових виробництв, готельно-ресторанного та туристичного бізнесу. – Полтава: ПУЕТ, 2015. – С. 276–277.
42. Alexandrov, A. Management system IAPWS-IF97 for calculating of thermodynamic properties of water and steam for industrial calculations. Additional equations [Text] / A. Alexandrov // Fittings. – 1998. – Issue 10. – P. 64–72.
43. Вешняков, В. А. Сравнение методов определения редуцирующих веществ: метод Бертрана, эбулиостатический и фотометрический методы [Текст] / В. А. Вешняков, Ю. Г. Хабаров, Н. Д. Камакина // Химия растительного сырья. – 2008. – № 4. – С. 47–50.
44. Рыжова, Г. Л. Получение сухого экстракта из плодов рябины сибирской и изучение его химического состава [Текст] / Г. Л. Рыжова, С. А. Матасова, С. Г. Башуров // Химия растительного сырья. – 1997. – № 2. – С. 37–41.